

## 乳酸発酵を用いた未・低利用海藻の食用化について(1)

誌名	青森県ふるさと食品研究センター研究報告 = Report of Aomori Prefectural Local Food Research Center
ISSN	13490400
著者名	雫石,志乃舞 山日,達道
発行元	青森県ふるさと食品研究センター
巻/号	4号
掲載ページ	p. 30-33
発行年月	2007年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 乳酸発酵を用いた未・低利用海藻の食用化について - I

雫石 志乃舞・山日 達道

Development of process for making new lactic acid bacterium fermented food from unused seaweed

Shinobu SHIZUKUISHI, Tatsudo YAMABI

キーワード：ツルアラメ (*Ecklonia stolonifera*), 乳酸発酵 (Lactic acid fermentation)

本県沿岸には200種以上の海藻が生育するものの、産業用海藻としてはコンブ、ワカメ、フノリ、モズク、エゴノリなどに限定されている。産業用海藻以外の海藻は生育量の多寡、藻体の有する特有の臭気や不快なえぐ味、あるいは藻体の硬さなどの理由により、未・低利用資源となっているのが実情である。本事業では、生育量の多いツルアラメなどを対象海藻種として取り上げ、これらの利用上の問題点を乳酸菌を応用した発酵技術により解決し、嗜好性を付与した素材とし、これを用いた新規の海藻加工品を開発することを目的とした。

### 試 験 方 法

#### 1. 試料

2005年5月、大間地先で採取されたツルアラメ (*Ecklonia stolonifera* コンブ目コンブ科) について、水道水で洗浄した後直ちに凍結乾燥し、粉碎したものを試料とした。

#### 2. 一般成分

水分は105℃定温加熱法、灰分は550℃の灼熱灰化法、粗タンパク質はケルダール法、粗脂肪はソクステスト148 (ACTAC製) を用いたジエチルエーテル抽出法を用いて測定した。

#### 3. 総食物繊維

Prosky変法<sup>1)</sup>により測定した。

#### 4. 遊離アミノ酸量

試料を80%エタノールで抽出後、濃縮乾固し、その0.02N HCl溶解液を高速アミノ酸分析計 (日立L-8500A) にて定量した。

#### 5. 総ポリフェノール量

試料に50%エタノールをおよそ20mL加え、20分間超音波処理抽出した後、25mLに定容した。次にろ過 (ADVANTEC No. 7) を行い、ろ液から100 $\mu$ Lを試験管に採り、純水4mL、5倍希釈Folin-Ciocalteu試薬1mL、10% (W/V) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液1mLを加え攪拌した後、暗所で1時間反応させた。反応終了後、直ちに760nmにおける吸光度を測定した。標準品として (+) -カテキンを用い、試料中のポリフェノール量をカテキン量に換算し、総ポリフェノール量として示した。

#### 6. 乳酸菌数の測定<sup>2)</sup>

BCP加プレートカウント寒天培地を用い混釈平板とし、培養温度35℃で72時間後、黄変しているコロニーを乳酸菌としてカウントした。

#### 7. 一般生菌数の測定

標準寒天培地を用い混釈平板とし、培養温度35℃で48時間後、コロニーを一般生菌数としてカウントした。

## 8. 乳酸の定量

F-キット (JKインターナショナル) を用いて測定した。

## 9. pH

pHメータ (堀場製) を用いて測定した。

## 10. 乳酸菌懸濁液の調製<sup>2)</sup>

各菌をGYP培地に加え、35℃で3日間培養した。その後集菌、洗浄し、OD<sub>660</sub> = 1.0となるよう調整した。

## 結果及び考察

### 1. ツルアラメの成分特性

ツルアラメはコンブ目コンブ科に属する褐藻類であるが、雑海藻として扱われ、その成分に関する知見も少ない。そこで試料として

供するにあたり主な成分を調べた。表1にツルアラメの一般成分および総食物繊維量を示した。炭水化物量が最も大きい割合を占め、総食物繊維も51.6 g/100gと高い値を示した。食物繊維は難消化性であるので栄養素としての機能は持たないが肥満予防、血糖の上昇抑制、大腸ガンの発症抑制など様々な機能性をもつとされている<sup>3)</sup>。今回の分析結果からツルアラメは食物繊維のよい供給源となりうることを示された。

表2に遊離アミノ酸組成を示した。ツルアラメはコンブ目コンブ科ではあるがマコンブの旨味の基となっているグルタミン酸含量は少なく、マコンブの代替品としての活用は難しいと考えられた。遊離アミノ酸の中で最も多い割合を占めるのはアラニンでおよそ40%、次いでプロリンのおよそ27%で、この二つのアミノ酸で全遊離アミノ酸のおよそ2/3を占めていた。

次に総ポリフェノール含量であるが、52.3 mg/g乾物とマコンブの約8.3倍、

スジメの約4.5倍<sup>4)</sup>となり著しく高い値を示した。谷口ら<sup>5)</sup>によるとツルアラメはコンブ科褐藻の中で特異的に多数のポリフェノール化合物、フロロタンニンなどを二次代謝産物として多量に生成、蓄積することにより植食生物の摂食に対して化学的に防御しているとされる。このポリフェノール含量の高さがツルアラメ特有のえぐ味の一因になっているのではないかと考えられる。

### 2. 酵素による糖化の検討

乳酸菌によって発酵させるために海藻粉末を糖化する必要がある。そこでセルラーゼオノヅカ12S (ヤクルト薬品工業社)、マセロチームR-10 (ヤクルト薬品工業)、アルギン酸リアーゼ (ナガ

表1 ツルアラメの一般成分および総食物繊維量 (g/100g乾物)

成分	粗タンパク質	粗脂肪	炭水化物	総食物繊維
20.3	5.9	1.7	72.1	51.6

表2 ツルアラメの遊離アミノ酸組成 (mg/100g)

P-Ser	11.7	Ile	4.6
Tau	4.4	Leu	4.6
PEA	0.6	Tyr	7.9
Urea	0.0	Phe	4.8
Asp	21.5	b-Ala	3.7
Thr	5.0	b-Aiba	11.8
Ser	5.1	EOH <sub>2</sub> NH	2.4
Glu	18.0	Hylys	0.0
Sar	18.8	Orn	0.4
a-AAA	0.0	Lys	1.8
Gly	1.1	1Mehis	0.0
Ala	248.2	His	1.2
Cit	12.6	3Mehis	0.0
a-ABA	0.0	Ans	0.0
Val	10.7	Cal	8.3
Cys	0.0	Arg	1.9
Met	2.9	Hypro	0.0
Cysthi	30.2	Pro	164.8
		合計	607.8

表3 総ポリフェノール含量 (mg/g乾物)

ツルアラメ	スジメ(5月)*	チガイソ(5月)*	マコンブ*
52.3	11.7	13.3	6.3

\* 4)より引用

セケムテック)、マンナーゼ (ヤクルト薬品工業)、アガラーゼ (ヤクルト薬品工業)、キシラーゼ (ヤクルト薬品工業) などの酵素を使い、ツルアラメ粉末のセルロース溶解試験を行った。ツルアラメ粉末 0.2 g、酵素各 0.001 g および水 10ml を試験管に入れ、35°C で 24hr インキュベートし、その後吸光度計にて濁度および透過率を測定した。表 4 に各酵素の組み合わせとインキュベート後の濁度および透過率を示した。

表4 ツルアラメ粉末溶解のための酵素の検討

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	対照
β-アガラーゼ	○			○			○			
β-1,4マンナーゼ	○				○					
β-1,3キシラーゼ	○					○				
アルギン酸リアーゼ	○	○	○	○	○	○	○			
セルラーゼオノヅカ12S	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
マセロチームR-10	○	○		○	○	○		○		
濁度(OD660)	0.56	0.55	0.53	0.53	0.47	0.54	0.44	0.86	0.86	1.07
透過率	28.2	27.6	29.4	28.6	34.1	29.3	36.3	14.0	14.4	8.6

内田ら<sup>6)</sup> がアオサ、ワカメなどを溶解したときとは異なり、セルラーゼ単独ではほとんど溶解がみられなかった。最も溶解がみられたのはβ-アガラーゼ、アルギン酸リアーゼおよびセルラーゼの組み合わせであった。このためツルアラメ粉末の発酵試験にはこの3つの酵素を用いることとした。

### 3. 乳酸菌による発酵試験

発酵試験では乳酸菌の中から *Lactobacillus plantarum*、*L. brevis* および *L. acidophilus* を使用した。ツルアラメ粉末 0.5 g に滅菌水 50ml、3種の酵素をそれぞれ 0.002 g ずつ加え、35°C で 1 昼夜 インキュベートした後、乳酸菌懸濁液 (OD<sub>660</sub> = 1) を 1 mL 加え、35°C で 4 日間培養した。*L. plantarum*、*L. brevis*、*L. acidophilus* 懸濁液の濃度はそれぞれ  $4.5 \times 10^8$ /ml、 $2.1 \times 10^8$ /ml および  $1.2 \times 10^8$ /ml であった。表 5 に乳酸菌数および一般生菌数の経時変化を示した。

表5 乳酸菌数と一般生菌数の経時変化

		開始時	D1	D2	D3	D4
<i>L. plantarum</i>	乳酸菌数	$9.1 \times 10^6$	$1.8 \times 10^7$	$5.6 \times 10^6$	$2.3 \times 10^5$	$2.3 \times 10^4$
	一般生菌数	-	$1.7 \times 10^7$	$6.8 \times 10^6$	$2.2 \times 10^5$	$2.1 \times 10^4$
<i>L. brevis</i>	乳酸菌数	$3.1 \times 10^6$	$2.0 \times 10^7$	$2.3 \times 10^7$	$1.4 \times 10^7$	$5.3 \times 10^6$
	一般生菌数	-	$2.2 \times 10^7$	$2.3 \times 10^7$	$1.4 \times 10^7$	$4.8 \times 10^6$
<i>L. acidophilus</i>	乳酸菌数	$2.5 \times 10^6$	$1.7 \times 10^7$	$6.9 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6$	$1.2 \times 10^5$
	一般生菌数	-	$1.6 \times 10^7$	$7.4 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6$	$1.2 \times 10^5$

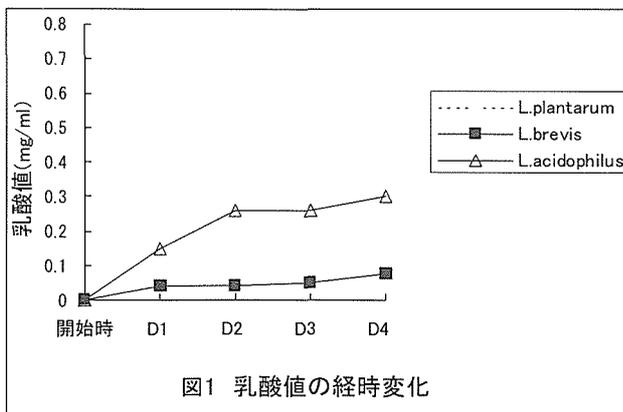


図1 乳酸値の経時変化

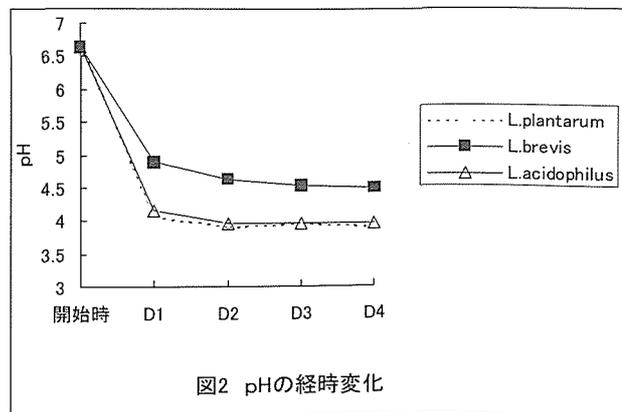
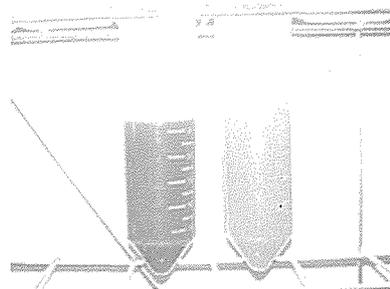


図2 pHの経時変化

乳酸菌数は開始時から24時間後では増加する傾向にあったがその後、減少に転じた。また乳酸菌数と一般生菌数の間に大きな差は見られず、検出された菌は乳酸菌のみであると判断した。図1に乳酸値の経時変化を、図2にpHの経時変化を示した。最も乳酸値が増大したのは*L. plantarum*を植菌した試験区であり乳酸値は2日後に最大となった。pH経時変化では3つの試験区においていずれも植菌後1日目大きく低下し、その後大きい変化は見られなかった。乳酸生成量の少ない*L. brevis*試験区ではpHの低下も他の乳酸菌種と比較すると変化の幅が小さかった。乳酸量の増加およびpHの低下から乳酸発酵が行われたことが確認された。発酵後の臭気はツルアラメ独特の臭気とは異なり、市販されている珍味の酢コンブ様の臭気であった。しかし、その色調は茶褐色を呈し食品としたとき好ましい色調ではなかった。

#### 4. 色調の改善

ツルアラメ粉末の酵素溶解溶液が茶褐色を呈するのは非常に多い総ポリフェノール量がその一因であると考えられた。そこでポリフェノール類を除去する目的で、ツルアラメ粉末に50%エタノール溶液を加え攪拌した後、遠心分離にて上清を取り除いた後の粉末を酵素溶解し、発酵することを試みた。すなわち、ツルアラメ粉末0.5gに50%エタノール25mlを加え攪拌後20分間放置し、遠心分離にて上清を除去した。この操作を3回繰り返した後、残渣に滅菌水50mlおよび3種類の酵素を加え1晩35℃でインキュベートした後、*L. plantarum*懸濁液を加え発酵させた。エタノール処理したツルアラメ粉末の総ポリフェノール量は6.8mg/g乾物と、無処理のツルアラメ粉末のおよそ13%にまで減少した。また色調も茶褐色から薄緑色と変化が見られた(右図:左側がエタノール無処理、右側がエタノール処理後の海藻粉末溶液)。また乳酸懸濁液を加えてから3日後にはpHが3.9付近まで低下し、乳酸発酵が行われたことが示された。また、海藻臭が薄れエステル化合物様の香気が確認され、ツルアラメ特有のえぐ味が軽減されていた。従ってツルアラメ粉末をエタノール処理し乳酸発酵することにより新たな海藻食品素材となる可能性が示唆された。



#### 要 約

1. ツルアラメの総ポリフェノール量はマコンブ、スジメなどと比較すると著しく多かった。
2. ツルアラメ粉末はワカメやオアサとは異なりセルラーゼのみでは溶解できなかった。
3. 酵素溶解したツルアラメ粉末は乳酸菌を加えることにより乳酸発酵することが確認された。
4. 乳酸発酵のみによる臭気改善効果は大きくなかった。
5. ツルアラメ粉末をエタノール処理することにより、色調及び香気改善の効果が認められた。

#### 引 用 文 献

- 1) (財)日本食品分析センター:五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説, 中央法規出版, 東京, 2001, 66-80.
- 2) 小崎道雄・内村泰・岡田早苗:乳酸菌実験マニュアル, 朝倉書店, 東京, 1992, 7-15.
- 3) 山田信夫:海藻利用の科学, 成山堂書店, 東京, 2000, 97-103.
- 4) 零石志乃舞・成田清一:未利用海藻の成分特性について, 青ふ食研セ報, 2, 17-22 (2004)
- 5) 谷口和也・蔵多一哉・鈴木稔:褐藻ツルアラメのポリフェノール化合物によるエゾアワビに対する摂食阻害作用, 日水誌57 (11), 2065-2071 (1991)
- 6) 能登谷正浩:海藻利用への基礎研究-その課題と展望-, 成山堂書店, 東京, 2003, 99-124